

BEST AVAILABLE COPY

Translation of Japanese Patent Unexamined
Publication No. 4 - 247034

Patent Application No. 3 - 239506

Date of Patent Application 19th September, 1991

Priority

Priority date 20th September, 1990 (GB)

Priority No. 9020544

Publication No. 4 - 247034

Publication date 3th September, 1992

CLAIM 1:

Pharmaceutical composition for intranasal administration comprising hPTH fragment selected from [1 - 35] hPTH, [1 - 36] hPTH and [1 - 35] hPTH, [1 - 38] hPTH and [1 - 41] hPTH or analogues or derivatives thereof.

CLAIM 2:

Pharmaceutical composition for intranasal administration containing, without absorption promotor or surface active agents, [1 - 34] hPTH and [1 - 41] hPTH or analogues or derivatives thereof and carrier.

CLAIM 3:

A composition according to claim 2 wherein the carrier is polyacrylate, starch or its derivative, arginic acid or its salt, hyaluronic acid or its salt, pectic acid or its salt, gelatin or its derivative, gum, poly lactate or its polymer, polyvinylacetate, cellulose or its derivative, coated cellulose or cross linked dextran.

CLAIM 4:

A composition according to claim 2 wherein the carrier is cellulose, α -cellulose, fine crystalline cellulose, coated cellulose, coated α -cellulose or coated fine crystalline cellulose.

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平4-247034

(43)公開日 平成4年(1992)9月3日

(51)Int.Cl.	識別記号	序内整理番号
A 61 K 37/24		8317-4C
9/00	V	7329-4C
37/30		8317-4C
37/43		8317-4C
47/38	B	7329-4C

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数17(全 13 頁)

(21)出願番号 特願平3-239506

(22)出願日 平成3年(1991)9月19日

(31)優先権主張番号 9020544

(32)優先日 1990年9月20日

(33)優先権主張国 イギリス (GB)

(71)出願人 390032997

サンド・アクチエンゲゼルシャフト
SANDOZ AKTIENGESELL
SCHAFT

スイス国シーエイチ-4002バーゼル・リヒ
トシュトラーゼ35

(72)発明者 フランソワ・カルディノー
スイス、ツエーハー-4206ゼーヴェン、ア
オフ・デン・ツイーレルン (番地の表示な
し)

(74)代理人 弁理士 青山 茂 (外1名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 鼻用医薬組成物

(57)【要約】 (修正有)

【目的】 鼻腔投与用に適合した、hPTH (ヒト副甲状腺ホルモン) またはそのN-末端フラグメントを含む医薬組成物を提供すること。

【構成】 [1-35] hPTH、[1-36] hPT
H等の、hPTHフラグメントからなる鼻腔用医薬組成物、および下記式

H-X₁-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-
Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-L
ys-His-Leu-Asn-Ser-Met-GI
u-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg
-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-
His-Asn-Phe-Val-X₂-X₃

[式中、X₁はSerまたはAlaであり、X₂はLe
uまたはAlaであり、X₃はOHまたはNH₂であ
る]で表わされる化合物。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 [1-35] hPTH, [1-36] hPTHおよび[1-38] hPTHないし[1-41] hPTHまたはこれらの類似体もしくは誘導体から選ばれるhPTHフラグメントからなる鼻腔用薬用組成物。

【請求項2】 [1-34] hPTHないし[1-41] hPTHまたはこれらの類似体もしくは誘導体から選ばれるhPTHフラグメント及び担体を吸収促進剤または界面活性剤の不在下に含む鼻腔用薬用組成物。

【請求項3】 担体が、ポリアクリラート、澱粉またはその誘導体、アルギン酸またはその塩、ヒアルロン酸またはその塩、ベクチン酸またはその塩、ゼラチンまたはその誘導体、ゴム類、ポリ乳酸またはその共重合体、ポリビニルアセタート、セルロースまたはその誘導体、被覆セルロースまたは架橋デキストランである、請求項2に記載の組成物。

【請求項4】 担体が、セルロース、 α -セルロース、微結晶性セルロース、被覆セルロース、被覆 α -セルロースまたは被覆微結晶性セルロースである、請求項2に記載の組成物。

【請求項5】 組成物の総重量または容量の0.1ないし99.9%（重量）の担体を含む、請求項2に記載の組成物。

【請求項6】 担体が、セルロースの重量を基礎にして1ないし15%（重量）の被覆剤で被覆されたセルロースである、請求項2に記載の組成物。

【請求項7】 担体が、飽和または不飽和C₁₈~C₂₂脂肪酸のグリセリドで被覆されたセルロースである、請求項2に記載の組成物。

【請求項8】 投薬剤型当たり1ないし30mgの担体を含む請求項2に記載の組成物。

【請求項9】 吸収促進剤または界面活性剤および所望により液体または固体の担体を含み、当該フラグメントが[1-34] hPTHである時吸収促進剤または界面活性剤がグリシルリジナートである、[1-34] hPTHないし[1-41] hPTHから選ばれるhPTHフラグメントを含む、鼻腔用薬用組成物。

【請求項10】 吸収促進剤または界面活性剤が0.5ないし10%（重量）の量で存在する、請求項9に記載の組成物。

【請求項11】 鼻腔用スプレー、点鼻剤、ゲル、粉末または鼻腔挿入剤の形である、請求項2または9に記載の組成物。

【請求項12】 飽和または不飽和C₁₈~C₂₂脂肪酸のグリセリドで被覆されたセルロース。

【請求項13】 セルロース、 α -セルロースまたは微結晶性セルロースを含む請求項12に記載のセルロース。

【請求項14】 生理学的に活性なペプチド及び被覆セルロースからなる、粉末の形の鼻腔用薬用組成物。

2

【請求項15】 ペプチドがhPTH、カルシトニン、またはスマトズチチンまたはその類似体もしくは誘導体である、請求項14に記載の組成物。

【請求項16】 遊離型または塩もしくは錯体の形の式I: H-X₁-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe-Val-X₂-X₃〔式中、X₁はSerまたはAlaであり、X₂はLeuまたはAlaであり、X₃はOHまたはNH₂である〕の化合物。

【請求項17】 薬学的担体または希釈剤と共に遊離型または薬学上許容し得る塩の形または錯体の形の請求項16に定義の式Iの化合物を含む薬用組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はヒト副甲状腺ホルモン(hPTH)またはPTH様活性を有するhPTHフラグメントを投与するための新規な手段並びにこれらの化合物を含む新規な薬剤組成物に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 hPTHは骨に対する同化作用を有することが知られており、したがって例えば骨粗鬆症の処置に有用であると言わされてきた。骨に対する同化作用は、そのN末端フラグメント、例えばhPTH[1-34]またはhPTH[1-38]についても示されている。しかしながらPTHの作用機作及び性質の詳細の多くは未だ発表されていない。hPTHまたはそのフラグメントは胃腸管で蛋白分解的減成を受け易いペプチドであり、辛うじて体液中に入り込むのみである。このため従来非経口投与が行なわれてきたが、市販の剤型はまだ入手できない。しかしながら、注射は常に不便であり、投与が規則正しい間隔で長期間の治療用に行なわれることが意図される場合、例えば閉経後の骨粗鬆症の処置においては、注射は患者にかなりの苦痛と不快さをもたらし得る。よって、患者にもたらされる不都合がより少なく、且つ好ましくは簡単に自分で投与でき、なおかつ同時に有効な処置のための十分な効率を達成できるような、任意のhPTHフラグメント投与の可能な代替手段が主要な目標である。鼻腔経路は、例えば鼻腔スプレーまたは鼻腔用アプリケーターからの粉末の投与といったように、患者自身によって簡単に実施できる、単純且つ無痛の投与方法を提供する。この経路は、明らかに、一般に医師の監視の下に行なわれる非経口投与に優る大きな利点を有する。しかしながら、大きなペプチドの鼻腔粘膜からの吸収は、効果的な治療を達成するには不十分である。事実、吸収を促進させるために、このような大型ペプチドと同時投与すべき吸収促進剤が提唱されてき

た。

【0003】

【発明の構成】驚くべきことに、本発明者らは、あるN末端hPTHフラグメント、とりわけhPTH[1-38]が、特にこれらを鼻腔投与に役立つようにさせる興味深い性質を有することを発見した。上に指摘したhPTHのN末端フラグメントは、そのカルボキシ端に任意の適当な基、特にCOOHまたはCONH₂基を含み得る。特に興味深いhPTHフラグメントは、例えば、hPTH[1-34]、hPTH[1-35]、hPTH[1-36]、hPTH[1-37]、およびhPTH[1-38]である。このフラグメント定義方法は、当該フラグメントの末端COOHおよび末端CONH₂を含んでいる。特に好ましいのは、式：H-Ser-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe-Val-Ala-Leu-Gly-X【式中XはOHまたはNH₂、好ましくはOHである】を有するhPTH[1-38]である。本発明の一側面によれば、本発明は、鼻腔投与用に適合させ、hPTH[1-35]、hPTH[1-36]およびhPTH[1-38]ないしhPTH[1-41]またはそれらの類似体もしくは誘導体より選ばれるhPTHのN末端フラグメント、好ましくはhPTH[1-38]を含む薬用組成物を提供するものである。

【0004】本明細書中使用される「類似体または誘導体」とは、化学式において、1またはそれ以上のアミノ酸単位が1またはそれ以上の他のアミノ(酸)基に置換されており、そして/または、1またはそれ以上の官能基が1またはそれ以上の他の官能基に置換されており、そして/または、1またはそれ以上の基が1または数個の他の等配電子の基に置換されている、天然hPTHフラグメントのペプチドに対する任意のペプチド類似体を意味するものである。一般に、この語はPTH様活性を表わす全ての化合物を包含するが、所望ならば異なった効力または薬理学的性質を有する化合物をも包含し得る。

【0005】薬用組成物は、鼻腔粘膜と共に得る試形剤を使用して、例えば以下に記載のごとく、常法通りに配合することができる。本発明の別の態様によれば、hPTH[1-35]ないしhPTH[1-41]から選ばれるhPTHフラグメントまたはその類似体もしくは誘導体、及び鼻腔粘膜への適用に適当な液体または固体の担体からなる、鼻腔投与に適合させた薬用組成物が提供される。さらに別の態様においては、本発明は、hPTH[1-34]ないしhPTH[1-41]から選ばれるhPTHフラグメントまたはその類似体もしくは誘導体、及び、吸収促進剤または界面活性剤の不在下にお

ける鼻腔粘膜への適用に適当な液体または固体の担体からなる、鼻腔用組成物を提供するものである。この薬用組成物は、鼻腔粘膜への局所投与用に配合することができ、例えば骨からのカルシウムの溶出または骨の再吸収の増大に付随して起る骨の病態、または骨へのカルシウム固定の増加が望まれる病態、例えば骨粗鬆症の処置または予防において、当該フラグメントの全身性作用を提供することができる。一連の個別的なまたはこれに代わる態様において、本発明はさらに、1. 例えば、骨からのカルシウムの溶出または骨の再吸収の増大に付随する骨の病態の全て、または骨へのカルシウム固定の増加が望まれる骨の病態の全て、例えば種々の起源の骨粗鬆症（例えば、少年期の、更年期の、更年期後の、外傷後の、老齢による、または副腎皮質ステロイド療法もしくはその不全による）、骨折、骨格の脱臼に付随する急性及び慢性の状態を含む骨障害、骨軟化症、歯槽骨の喪失、及び皮膚病、の予防的または治療的処置を目的として、これらの処置を必要とする対象に、PTH様活性を有するフラグメントを投与する方法であって、hPTHまたは該hPTHフラグメントを鼻腔経路を介して、例えば本明細書に定義の組成物の形で投与することからなる方法；2. hPTHフラグメント及び所望の成分を完全に混合し、この組成物を、例えば下記のような単位投薬形態に上げることからなる、本明細書に定義かつ記載の鼻腔用薬用組成物の製造方法：を提供する。

【0006】本発明によれば、鼻腔粘膜への到達を意図とするこの薬用組成物は、液体または固体、例えば鼻腔用スプレー、点鼻剤、ゲルもしくは粉末の剤型、または鼻腔挿入剤とすることができます。本発明における使用のための上記定義によるhPTHフラグメントは、遊離型、または薬学上許容し得る塩の形、または錯体もしくは溶媒和物の形、例えば薬学上許容し得る酸付加塩の形であり得る。このような塩及び錯体は既知であり、遊離型と同程度の活性及び許容性を有する。本発明に係る使用に好適な酸付加塩の形は、例えば塩酸塩及び酢酸塩を包含する。本発明の組成物中に液体担体が存在する場合、即ち本発明に係る液体組成物においては、これは好ましくは水性であるが、鼻腔粘膜への適用に好適な生理学的に許容し得る非水溶媒から選択することもできる。好ましくは、この液体担体は、水、食塩水、例えば生理食塩水、または水性緩衝液、例えば磷酸/クエン酸緩衝液である。

【0007】固体担体が存在する場合、即ち本発明に係る固体鼻腔用組成物においては、これは、例えば水不溶性、水難溶性、吸水性、水膨潤性、ゲル形成性、または水溶性であってよい。このような担体の例は、例えば、所望により架橋した合成または半合成ポリマー、例えばポリアクリル酸ナトリウム、同カリウムまたは同アンモニウムのようなポリアクリル酸塩類、ポリ乳酸、ポリグルコール酸、乳酸及びグリコール酸の共重合体、ポリビ

ニルアルコール、ポリビニルアセタート、ビニルアルコール及びアセタートの共重合体、カルボキシビニルポリマー、ポリビニルピロリドン及びポリエチレングリコール；セルロース、微結晶性セルロース及び α -セルロースのようなセルロース類、並びに、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロビルセルロース、ヒドロキシプロビルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、およびエチルヒドロキシエチルセルロースのようなセルロース誘導体；被覆セルロース、微結晶性セルロースまたは α -セルロースのような被覆セルロース類； α -、 β -または γ -シクロデキストリン、ジメチル- β -シクロデキストリン、デキストリンのようなデキストリン類；天然の澱粉及びそれらの誘導体のような澱粉類、例えばヒドロキシエチルまたはヒドロキシプロビル澱粉及びカルボキシメチル澱粉；デキストラン、架橋デキストラン類、ブルラン、アルギン酸及び同塩、ヒアルロン酸及び同塩、ベクチン酸及び同塩、フィチン酸及びフィチンのような多糖類；D-マンニトール、グルコース、ラクトース、フルクトース、イノシトール、シュクロースおよびアミロースのようなサッカロース類；グリシン及びタウリンのようなアミノ酸類；ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸、ポリグリシン及びポリロイシンのようなポリアミノ酸類；カゼイン、ゼラチン、スクシニルゼラチンのようなゼラチン誘導体、キチン、及びキトサンのような蛋白類；アラビアゴム、トラガカントゴムおよびグルコマンナンのようなゴム類、ならびに燐脂質類；並びにこれらの混合物を包含する。

【0008】好みしい担体は、鼻腔用組成物の鼻腔粘膜への接触を改善し、または、鼻腔用組成物から鼻腔粘膜への薬物の拡散を促進、例えば鼻腔用組成物の鼻腔内居留時間を延長し、そして／または、薬物または組成物及び粘膜との距離を減少させるような担体である。好みしい固体担体は、ポリアクリラート類、カルボキシメチルセルロースナトリウム、澱粉類及びその誘導体、アルギン酸及び同塩、ヒアルロン酸及び同塩、ベクチン酸及び同塩、ゼラチン及びその誘導体、ゴム類、ポリ乳酸及びその共重合体、ポリビニルアセタート、セルロース類及びその誘導体、被覆セルロース類、架橋デキストラン類であり、より好みしくはポリ乳酸及びその共重合体、ポリビニルアセタート、セルロース類及びその誘導体、被覆セルロース類並びに架橋デキストラン類である。特に好みしいものは、セルロース、 β -セルロース、微結晶性セルロース、被覆セルロース類、架橋デキストラン類及び澱粉類である。被覆セルロースとは、セルロース粒子の鼻腔粘膜への生物学的粘着性をある程度改善するための生物学的粘着性を有する物質によってさらに被覆されたセルロースを意味する。

【0009】好みしくは、セルロース類は脂肪酸エステルによって被覆され、より好みしくはグリコールまたは

グリセリンの脂肪酸エステル、最も好みしくは飽和または不飽和C₁₅–C₂₂脂肪酸のグリセリドによって被覆されている。特に好みしい被覆剤は、不飽和C₁₅–C₁₈脂肪酸のグリセリド類、特にモノグリセリド類である。好適な被覆剤の例は、例えばモノオレイン酸グリセロールを包含する。被覆セルロースは常套の技術により、例えば、被覆剤を不活性溶媒、例えばエタノールのようなアルコールに溶解し、得られた溶液にセルロースを分散し、そして溶媒を蒸発または組成物をスプレードライすることによって製造することができる。好みしくは、この被覆セルロースは、流動性粉末として製造する。好みしくは、このセルロース類は、セルロースの1ないし15%（重量）の量の被覆剤、より好みしくは1ないし10%（重量）の量の被覆剤で被覆する。特に好みしい被覆セルロースは、モノオレイン酸グリセロールで被覆された微結晶性セルロースである。

剤及び所望により液体もしくは固体の担体、例えば前記のごときセルロースもしくは被覆セルロースを含む。より詳しくは、hPTH [1-34] 及びグリシルリジナートである吸収促進剤または界面活性剤、そして所望により固体または液体の担体、例えば所望により被覆されたセルロースからなる鼻腔用組成物が提供される。吸収促進剤とは、例えば粘膜の構成因子との相互作用により、そして／または粘膜の透過性を増すことにより、鼻腔粘膜からの吸収を増加させるよう働く化合物を意味する。好適な吸収促進剤は、例えば、EP-A-2148
10 98に開示のようなコリンエステル類、EP-A-215697に開示のようなアシカルカルニチン類、アルドース類及びグルコサミン類、EP-A-37943に開示のようなアスコルバート類及びサリチラート類、EP-A-94157に開示のような α -シクロデキストリン、EP-A-173990に開示のようなビログルタミン酸エステル類、US4476116に開示のようなキレート試薬、ポリアクリル酸ゲル基剤、グリシルレチナートナトリウム、カプリン酸ナトリウム、酒石酸アンモニウム、グリシルリジン塩、例えばEP-A-327
20 756に開示のようなグリシルリジンナトリウムもしくは同アンモニウム、グリシンまたは γ -アミノレブリン酸を包含する。吸収促進剤の個別的事例を含む上記全ての刊行物の内容は、個々に引用して本明細書の一部とする。

【0012】所望により、本発明に係る液体及び固体組成物は、さらに、界面活性剤、例えば、胆汁酸塩、例えば、タウロコール酸ナトリウム、コール酸ナトリウム、デオキシコール酸ナトリウム、ケノデオキシコール酸ナトリウム、ケノデオキシコール酸リジン、グリココール酸ナトリウム、グリコデオキシコール酸ナトリウム、タウロコール酸リジン、及びタウロデオキシコール酸ナトリウム：エチレンオキシドの付いた長鎖アミン縮合産物及び四級アンモニウム化合物、例えばセチルトリメチルアンモニウムプロミド及びドデシルジメチルアンモニウムプロミドのような陽イオン界面活性剤；アルキルベンゼンスルホン酸塩、N-アシル-n-アルキルタウリン酸塩、 α -オレフィンスルホン酸塩、硫酸化直鎖一級アルコール、及び硫酸化ポリオキシエチレンアルコール（直鎖アルコール）のような陰イオン性界面活性剤；ポリオキシアルキレン高級アルコールエーテル、ポリオキシアルキレンアルキルフェノール類、天然脂肪酸のグリセロールエステル類を含む長鎖カルボン酸エステル類、プロピレングリコール、ソルビトール、及びポリオキシエチレンソルビトールエステル類、例えばポリソルベート（商標）80のような非イオン性界面活性剤；イミダゾリンカルボキシラート類、同スルホナート類などのような両イオン性界面活性剤；および、ホスファチジルコリン、卵または大豆レシチン、リソホスファチジルコリン、リソホスファチジルグリセロールなどのような天然

または合成蜡脂質、を含むことができる。これらの界面活性剤の殆どは吸収促進性をも有し、吸収促進剤として使用することもできる。

【0013】本発明の組成物の望ましい粘度は、個々の投与の型、例えば投与が点鼻剤によるか鼻腔スプレーによるかによって変わる。点鼻剤のための好適な粘度は、約2ないし 400×10^{-3} Pa.s. である。鼻腔スプレーのためには粘度は 2×10^{-3} Pa.s. より小さいのが好ましい。本発明に係る固体鼻腔用組成物中の担体、例えばセルロース担体を含む構成成分の粒子の大きさは、5ないし 500μ 、好ましくは10ないし 250μ 、より好ましくは20ないし 200μ である。本発明に係る液体組成物は、当該PTHフラグメントを、所望によりさらに別の成分を含む液体担体中に緊密に混合することによって製造できる。好ましくは、得られた混合物を次に凍結乾燥し、本発明に係る液体の形での使用のために、水または食塩水に溶解する。本発明に係る固体鼻腔用組成物は、常法により製造することができる。hPTHフラグメントは、所望により上に指摘したようなさらなる成分、例えば記載の吸収促進剤または界面活性剤と共に、常法通りに担体粒子、例えばポリマー基剤またはセルロース産物と混合できる。PTHフラグメントは、担体粒子と混合する際には、例えば水溶液またはアルコール溶液のような溶液であってよく、溶媒は、例えば凍結乾燥またはスプレードライの下で蒸発させる。かかる乾燥は、常套の条件下に実施できる。別法として、混合物を圧縮または顆粒化し、次いで微粉化及び／または篩過することもできる。所望ならばこの粒子を被覆することができる。

【0014】本発明の好ましい態様によれば、この鼻腔用組成物は凍結乾燥により製造する。hPTHフラグメント及び所望により例えば上に指摘したようなさらなる成分を含有する、均質な溶液、好ましくは水溶液を製造し、次いで、例えば既知の凍結乾燥法と同様にして凍結乾燥に付し、そしてこの後乾燥する。次に、得られた粉末を投与に先立ち液体賦形剤または担体に溶解し、例えば点鼻剤、ゲルまたはスプレーを再構成することができる。別法として、これを凍結乾燥粉末の形のまま投与することができ、またはこれを、例えば上に記載のようさらなる成分と混合することができる。例えば、活性成分を含有するが担体を含有しない凍結乾燥粉末を製造し、次いでこれを所望の担体または担体混合物と混合することができる。別の側面において、本発明は、上に開示したhPTHフラグメントを分散させた多孔性固体鼻腔挿入剤を提供する。さらに別の側面において、本発明は、ゼラチン及び／またはヒドロキシプロビルメチルセルロース及びhPTHフラグメントを含む多孔性マトリックスからなる固体鼻腔挿入剤を提供するものである。

【0015】鼻腔挿入剤は、任意の常套な方法、例えば、a) 例えば、マトリックス形成の可能なポリマー及

びhPTHフラグメントを含有する液体を凍結乾燥することにより、ゼラチン及び／またはヒドロキシプロビルメチルセルロースを含む多孔性マトリックス中にhPTHフラグメントの分散を作り、または、b) 例えば水溶液中に例えば室温下で海綿を浸し、例えば凍結乾燥によって溶媒を留去することにより、hPTHフラグメントを鼻腔挿入剤中に分散させる、ことによって作り出すことができる。「鼻腔挿入剤」とは、例えば鼻孔内挿入を目的とした鼻孔内への留置及び維持に適するような大きさであり形であって：または、鼻孔内への挿入及び／または鼻孔内での維持のために製造され、形作られ、またはその他の点で適合しており：または、鼻孔内表面と実質上同じ形に整形されており：または、鼻孔内挿入を行なうための指示と共に提供される、装置、と理解されるべきである。この挿入剤は鼻孔内に維持されるが鼻腔粘液によって流され得、鼻孔内の同じ位置で活性物質を放出するよう設計することができる。好適な鼻腔挿入剤の型は、鼻栓、タンポンなどを包含する。簡便には、挿入剤の体積及び多孔性は、これが鼻孔内にとどまり、且つ呼吸が著しく妨げられないように選択する。好適な寸法は、例えば約0.05ないし約1cm³、例えば約0.5ないし約0.8cm³である。形状は、だいたい例えば円筒形、円錐、立方体または球形とすることができます。

【0016】hPTHフラグメントは、例えばその表面への吸着によって挿入剤上に運ばれ、または、例えば吸着によって挿入剤中に運ばれ、または、他の任意の簡便な手段、例えば1またはそれ以上の鼻腔用として許容し得る希釈剤または媒体と組み合わせて、例えば固体または半固体の被覆といったような被覆の形で挿入剤の表面上に運ばれ得る。別法として、挿入剤自体が可溶性または半可溶性物質、例えば水溶性ポリマーからなる場合、または他の手段で鼻腔内で滅成し得る物質、例えばゼラチンのような鼻腔用として許容し得る蛋白性物質からなる場合、hPTHフラグメントは固体の形で存在、例えば挿入剤の内部に分散された、例えばマトリックス中に分配された、凍結乾燥物の形で存在し得る。好ましくは、hPTHフラグメントは、例えば吸着によって、挿入剤に運ばれ、そして適当に挿入剤中に配分される。本発明に係る挿入剤は、鼻腔粘膜の表面に運ばれるペプチドを放出することができる。この目的のために、好ましくは挿入剤は、鼻孔の内表面に合致するように、例えば挿入剤の表面及び鼻腔粘膜が最大に接触できるように形作られ製造される。さらに、hPTHフラグメントが例えば吸収により挿入剤中に維持される場合、その性質、例えばこれが含まれる物質の吸収の性質は、ペプチドが挿入剤の表面に容易に移動し、その後この挿入剤表面から鼻腔粘膜により連続的に取り込まれるようにさせらるような性質であるのが適当である。

【0017】フラグメントが例えば吸着によって挿入剤

に保持される場合、この挿入剤は、ペプチドが保持、例えば吸収される間隙に多孔性マトリックスまたは網状物を供給する、任意の適当な、例えば鼻腔用として許容し得る物質を含むことができる。この物質は簡便には弹性があり、故に不快感なく鼻孔にとどまり得る。例えばこれは、脱脂綿のような線維性物質、または天然もしくは合成海綿のような海綿物質とすることができます。所望ならば、この物質は、投与時に、多少膨張、例えは約50%体積が増加してよい。挿入剤を製造する物質は、例えば水溶性ポリマーであってよい。好ましくはこのポリマーは鼻腔粘液により容易に湿润し得る。鼻孔中において、ポリマーは生物学的滅成を受け、例えば1またはそれ以上の日数にわたって徐々に溶解することさえできる。活性物質の用量が投与された後、ポリマーは除去されねばならないことがある。一例は、凍結乾燥した吸収可能なゼラチンのスポンジである。所望ならばマトリックスは、活性物質が投与されるまでに、または投与後程なく溶解してよい。例として、水溶性アクリレートポリマー及びセルロース、例えばヒドロキシプロビルセルロース及び特にヒドロキシプロビルメチルセルロースのようなセルロース誘導体が包含される。別法として水不溶性の結晶性セルロースが使用できる。

【0018】使用するマトリックス材料の性質、例えば粘度または分子量は、結果として得られる挿入剤が容易に扱われ保存できるように選択すべきである。ヒドロキシプロビルメチルセルロースの典型的な分子量は、約9000ないし15000であり、2%溶液の際の粘度は、例えば4ないし15cp付近である。別の適当な物質は、ゼラチンスポンジ物質である。例えば外科的処置の際の止血のための吸収性ゼラチンスポンジの詳細が、米国局方に記載されており、このようなスポンジが好ましい。かかるスポンジは、例えば、純粋なゼラチン水溶液を激しく攪拌して泡を生成させ、この泡を管理条件下で乾燥してスポンジを得、このスポンジを切り分けて切り分けた物を滅菌することにより製造できる。好適な大きさは、約5×5×5ないし約10×10×10mmである。このスポンジを使用前に手で圧縮するが、これは数時間で再吸収する。本発明に係る鼻腔挿入剤の製造における使用に特に好適なスポンジ材料は、A/Sフェロサン、5シドマルケン、DK-2860 スーポルグ、デンマークより入手できる製品スpongosстан（商標）である。これに代わり得るポリマーは、例えばヒドロキシプロビルセルロースまたはポリビニルピロリドンである。

【0019】上に指摘したように、挿入剤は好ましくは多孔構造を有する。都合の良いことに、鼻腔粘液が挿入剤を濡らし、活性物質は挿入剤の小孔を通って鼻腔表面に拡散することができる。挿入剤の小孔は、例えは数ミクロンないし約100μの直径を持ち得る。凍結乾燥した吸収性ゼラチンスポンジの小孔は、例えは約5ないし

11

100 μであり得る。小孔の大きさは例えば約5ないし約10 μであり得る。スponジ物質において、小孔は曲がりくねっていることがある。凍結乾燥下で挿入剤が製造されるとき、この小孔はほぼ線状であり得る。好ましくは、挿入剤は、これに安定な構造を与えるための水溶性の糖または類似の試形剤を含む。好適な糖の例は、乳糖、サッカロース、及びマンニトールを包含する。好ましくは、糖と他の物質との重量比は、約0.1ないし約1.0:1である。好ましい挿入剤は、ヒドロキシプロピルメチルセルロースのような水溶性ポリマー及び乳糖を含む。電子顕微鏡下において、凍結乾燥した試料は、各々に小孔を有する薄層構造を含んでいるよう見える。小孔は実質上試料全体に広がっている。hPTHフラグメントが例えば吸収によって挿入剤中に保持される場合、これは、簡便には、希釈の形で、例えば活性物質を、鼻腔用として許容し得る液体、例えばそのための液体、希釈液または媒質と共に含む組成物の形で導入する。このような組成物は、活性物質を、溶液、懸濁液、分散液などの形で含有するのが適当であろう。好ましくは、このような組成物は、活性物質を水溶液で含む。

【0020】挿入剤は、好ましくは、実質上微生物のいない、または無菌条件下に製造する。一つの好ましい変形においては、活性物質の溶液を凍結乾燥する。挿入剤は、例えば挿入剤の材料の溶液から、前もって製造、または凍結乾燥工程中に製造することができる。凍結乾燥は、常套の条件下で、好ましくは低温、例えば約-10°Cないし約-10°Cで実施できる。常法通りの圧力、例えば約0.01mmHgないし約0.2mmHgが使用できる。凍結乾燥は、海綿状であり得る非常に細かい孔を持つ外層を生むことがある。この外層は、厚さ約10ないし10μであり得る。所望ならば、凍結乾燥を極めて低い温度で実施することにより、その形成を回避することができる。別法として、これは摩擦により除去できる。本発明方法に従って投与されるべきhPTHフラグメントの量は、勿論、選択される個々の化合物（即ち、遊離、塩、溶媒和、または錯体の形である末端COOHまたはCONH₂）、処理の条件、望ましい投与頻度、及び望ましい効果、によって変わる。本発明組成物の生物学的利用可能性は、常法、例えばラジオイムノアッセイで測定できる。用量は、注射経路と同等の力値となるよう選択できる。活性化合物の量は一般に、一日に1または2回ないし4回投与したときに有効な処置が提供できるよう選択する。この目的のためには、活性化合物は、投与当り約0.01-100mg、好ましくは約0.1-10mgの濃度の遊離hPTHフラグメント（末端COOHまたはCONH₂を有する）を与えるように存在するのが適当である。

【0021】本発明に係る鼻腔用組成物中のさらなる各構成成分の割合は、使用する成分によって変わり得る。例えば担体の量は、組成物の総重量または容量の0.1

ないし99.9%（重量）の範囲とすることができる。好ましい固体組成物は、投薬当り担体1ないし30mg、特に4ないし20mgを含有する。界面活性剤が存在するとき、その量は、組成物の総容量または重量の約0.01ないし約1.0%またはこれ以上、好ましくは約0.05ないし約1.0%（重量）の範囲にあり、その量は、使用する個々の界面活性剤により変わる。一定の水準を超えると/orも吸収の促進は達せられず、且つ界面活性剤のレベルが高すぎると鼻腔粘膜を刺激する原因となるため、一般にその量はできるだけ低く維持する。吸収促進剤の量は、組成物の総重量の少なくとも0.1%、好適には約0.5ないし10%の範囲とすることができます。組成物が液体である場合、吸収促進剤は全組成物の0.1ないし5%（w/v）の量で存在するのが適当である。保存剤は組成物の総重量または容量の約0.002ないし0.02%の量で存在することができる。

【0022】本発明に係る組成物は任意の適当な形で投与できる。これらは、好ましくは鼻腔用アプリケーター中に、簡便には一定用量の活性成分が届けられるように、常法により投与用に包装することができる。点鼻剤の剤型での投与のためには、かかる組成物は、例えば常套の滴下／閉鎖装置を備えた、例えばピペット等を含む、好ましくは実質上一定の容量の組成物／一滴を放出する容器に入れるのが適当である。スプレーとしての投与のためには、このような組成物を適当な噴霧装置、例えばポンプ噴霧器などに入れる。この噴霧装置は、水性スプレーを鼻孔に到達させる適当な手段を提供するであろう。好ましくは、この物は実質的に一定の容量の組成物／発動作用（即ちスプレー単位当り）を確実に到達させる手段を提供するであろう。別法として、このスプレーを新規なエアロゾル装置中に加压下で詰めることもできる。簡便にはこの装置は、計量された用量を投与する。推進剤は気体または液体、例えば炭酸化及び/または塩素化炭酸水素と/orもすることができる。スプレー組成物は液体推進剤に懸濁または溶解することができる。安定化及び/または懸濁化剤及び/または共存溶媒が存在してもよい。所望ならば、粉末または液体を、軟または硬ゼラチンカプセルに、または経鼻投与に適合させた单一用量装置に充填することができる。粉末はカプセルに充填する前に篩過することができる。アプリケーターは、カプセルを壊し解放する手段を有する。粉末の鼻腔用組成物は、単位投薬形態の粉末として直接使用することができる。所望ならば、この粉末は、硬ゼラチンカプセルのようなカプセルに充填することができる。カプセルまたは单一用量装置の内容物は、例えば吸入器を用いて投与できる。これは好ましくは実質上一定量の組成物／発動作用の投薬を確実にする手段を提供する。

【0023】経鼻投用に適合させた本発明に係る薬用組成物は、局所的に寛容できる。例えば[1-38]hPTHを総容量40μlに溶解して（クエン酸／磷酸塩

で緩衝化) 日用量 100 μg/kg でラットに 3 週間経鼻投与したとき、鼻中隔軟骨への望ましくない効果は観察されない。本発明に係る鼻腔用組成物は、その構造及び鎖長に鑑みた場合、意外に安定であって、例えば +5 °C の温度では 1 年以上安定である。本発明に係る鼻腔用組成物は、投与時に h PTH フラグメントの供給を迅速に開始し、したがって、反復投与をする場合、同化的 PTH 療法に極めて好適な拍動性血漿プロファイルを産む。例えば極めて安定且つ良好に受認できる鼻腔用組成物は、作用を速やかに開始し、そして／または h PTH フラグメントの複雑な構造及び長さにもかかわらず一日に 2 回またはそれ以下の投与しか必要としないことがある。本発明に係る鼻腔用薬用組成物は、特に長期間の治療、例えば骨粗鬆症の治療を適応とする。先の記載によれば、本発明はさらに、上に定義及び記載した鼻腔投与用薬用組成物を液体または粉末の形で含む容器、及び、当該薬用組成物を含み、この含まれた組成物を液体(凍結乾燥物の溶解物を含む)または粉末の形で鼻腔粘膜に適用することを可能にする手段を提供する、アプリケーター装置を提供するものである。さらに、新規な被覆セルロースが、例えば担体として、任意の活性物質、とりわけペプチドの経鼻投与に有用であることも見いだされた。上の記述に従うと、本発明はさらに、鼻腔投与に適した粉末の薬用組成物であって、活性成分としての生理学的に活性なペプチド及び、例えば前記のような被覆セルロースからなる組成物を提供するものである。好みらしい被覆セルロース及びそれらの製造は前記の通りである。この被覆セルロースは、活性物質の確かな且つ効果的な経鼻投与のため特に興味深い性質を有している。

【0024】生理学的に活性なペプチドは、例えば、h PTH、カルシトニン類、カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)、インシュリン、ソマトスタチン、例えばオクトレオチド、パブレオチドまたはアンギオペプチド、成長ホルモン、セクレチン、ガストリシン、バソプレシン、オキシトシン、グルカゴン、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、ブロラクチン、黄体化ホルモン放出ホルモン(LRH)、ニューロテンシン、リンホキン、モノカイン、例えばインターフェロンまたはインターロイキン類、超酸化酵素化還元酵素、及びこれらの誘導体または類似体、のようないくつかの生理的活性を有するペプチドホルモン、蛋白及び酵素を包含する。好みらしいペプチド及びそれらの類似体または誘導体は、1000ないし 10000 の範囲の分子量を有するものである。より好みらしいのは、h PTH(前記の通り)、例えばサケのカルシトニン、ウナギのカルシトニン及びニワトリのカルシトニンといったカルシトニン類、及びソマトスタチン、並びにこれらの誘導体または類似体である。

【0025】粉末化したペプチド組成物は、さらなる成分、例えば h PTH 鼻腔用組成物について上に述べたよ

うな、粉末製剤の配合に必要とされる、例えば吸収促進剤、緩衝化剤、保存剤などを含有し得る。粉末化ペプチド組成物中の構成成分の割合は、例えば使用されるペプチドによって異なる。用量は注射経路と同等の力値となるよう選択できる。活性ペプチドの量は一般に、一日に 1 または 2 回ないし 4 回投与したときに有効な処置が提供されるよう選択する。生理学的に活性なペプチドは、投与当たり 0.01 ないし 100 mg、好みしくは 0.1 ないし 10 mg の濃度の遊離ペプチドを与えるような量で存在するのが適当である。粉末化組成物中に存在する被覆セルロースは、その組成物の約 0.05~99.995% (重量)、好みしくは約 0.5~99.99% (重量) とすることができます。好みしくは粉末化したペプチド組成物は前記のような粒子サイズを有する。粉末化ペプチド組成物は前記のごとく製造することができる。

【0026】h PTH の [1~36] フラグメントは新規化合物であり、これもまた本発明の一部を構成する。したがって本発明は別の側面においてさらに、式 I : H-X₁-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe-Val-X₂-X₃ [式中、X₁ は Ser または Ala であり、X₂ は Leu または Ala であり、そして、X₃ は OH または NH₂ である] で示されるペプチドを提供する。式 I の化合物は、例えばその遊離型、塩の形または錯体の形で存在し得る。酸付加塩は、例えば有機酸、重合酸及び無機酸によって形成され得る。このような酸付加塩型は、例えば塩酸塩及び酢酸塩を包含する。錯体は、例えば Ca- 及び Zn- 塩のような無機塩または水酸化物のような無機物質の添加時に、そして／または有機重合物質の添加時に、本発明組成物から形成される。

【0027】さらに本発明は、式 I の化合物の製造方法を提供する。これらは、例えばペプチド化学の分野で既知の方法によって製造できる。これらは、溶液中で、または固相合成方法を用いて段階的やり方で製造できる。さらにこれらは遺伝子工学によっても製造できる。式 I の化合物は、例えば以下のように製造できる：

- 保護型の式 I の化合物に存在する少なくとも 1 個の保護基を除去し、
- アミド結合によって、各々に少なくとも 1 個のアミノ酸を保護または非保護型で含んでいる 2 個のペプチドフラグメントを結合し(ここでアミド結合は、所望の式 I のアミノ酸配列が得られるような状態にある)、次いで所望により工程 a) を実施し、こうして得られた化合物を遊離型または塩の形で回収する。上の反応は、例えば以下の実施例に記載するように、既知の方法と同様に

して実施することができる。これらの反応において、所望ならば、その反応に参加しない官能基に対して、ペプチドへの使用に適当な保護基を使用することができる。保護基という語は、官能基を有するポリマー樹脂をも包含し得る。

【0028】遊離型または薬学上許容し得る塩及び錯体の形である式Iの化合物は、動物試験で示される貴重な薬理特性を表わし、故に治療を目的とすることができます。アーバッハおよびマーカス【エンドクリノロジー(Endocrinology)、第85巻801-810頁(1969).】の方法に従ってサイクリックAMPの合成を刺激する式Iの化合物の能力をインピトロ測定、または、バースンズ等【エンドクリノロジー(Endocrinology)(1973)第92巻454-462頁】の記載したインビボの生物検定法に従って、静脈内投与後ニワトリの血清カルシウムに及ぼすこれらの効果を測定することにより、式Iの化合物の生物活性を評価する。これらの試験において式Iの化合物は活性である。

【0029】より詳細には、式Iの化合物は、例えば以下のように、ラットの胎児の長骨における骨の再吸収を刺激することにより示されるようなPTH作動活性を示す：ライズ【ジャーナル・オブ・クリニカル・インベスティゲーション(J. Clin. Invest.)第44巻103頁】により記載されるようにラット胎児の長骨の培養を行なう。前もって¹⁴Caにより子宮内で標識した19日齢のラット胎児の前肢骨を、周囲の軟骨、筋肉及び結合組織を付着せずに摘出する。この骨をBGJ培地中24時間前培養し、次いでBSA(1mg/ml)を添加したBGJ0.5mlに移し、式Iの化合物の存在下に、2日目で培地を交換して5日間培養する。この骨の2日及び5日目の培地ならびに5%トリクロロ酢酸抽出物の¹⁴Ca含量を、液体シンチレーションカウントにより測定する。2日及び5日に放出された骨の全¹⁴Caのパーセントは、被験化合物の骨の再吸収刺激活性を示唆するものである。この試験中式Iの化合物は10⁻¹³ないし10⁻⁷Mの濃度で骨の再吸収を刺激する。

【0030】さらに式Iの化合物は、骨の培養中におけるコラーゲンの入れ替わりの研究により示されるように、骨の形成を調節する。21日齢のラット胎児由来の半頭蓋冠を、被験化合物の存在下で48時間培養する。処置時間のうち初めの4時間の間、この頭蓋冠を10⁻⁶Ci/mlの[³H]-プロリンで標識する。S.リズィエル及びE.カナリス、カルシファイド・ティッシュ・インターナショナル(Calcif. Tissue Int.)第44巻4.2.1-4.2.4頁、1989に開示のごとく、培養、加水分解及び誘導を実施する。誘導工程の最後にS.リズィエル等の記載のように、試料をHPLCにより[³H]アラニン/[³H]ヒドロキシプロリンの存在について分析する。10⁻¹³ないし10⁻⁷Mの濃度において式Iの化合物は、頭蓋冠の培養物に放出された[³H]ヒド

ロキシプロリンのレベルを48時間にわたり低下させる。さらに、式Iの化合物は、例えば[³H]チミジンのデオキシリボ核酸(DNA)への取り込みを刺激することにより、ラットの頭蓋冠培養における骨細胞の増殖を刺激する。21日齢のラット胎児由来の半頭蓋冠を、24時間の前培養の後、E.カナリス等、ジャーナル・オブ・クリニカル・インベスティゲーション(J. Clin. Invest.)第83巻60-65頁(1989)に記載のように24-72時間培養する。被験化合物をBGJ培地に直接添加する。骨の酸可溶性分画への[³H]チミジンの取り込みを測定することにより、DNA合成を評価する。培養の最後に5⁻⁶Ci/mlの[メチル-³H]チミジンを骨に2時間適用し、PBSで洗浄する。頭蓋冠の乾燥重量を測定するために、骨を5%(w/v)トリクロロ酢酸(TCA)、アセトン及びエーテルで抽出し、乾燥し、秤量する。秤量後、この骨を水で戻し、NCS組織ソルビライザー0.9ml中で消化した。消化物を、例えばトルエン中4.2%リクイフルーティ10mlの存在下で計数する。結果を頭蓋冠の乾燥重量当りの毎分の崩壊として表わす。式Iの化合物は、この試験において10⁻¹³ないし10⁻⁷Mの濃度で活性である。

【0032】したがって、式Iの化合物は、カルシウムの摂取または再吸収の増大に付随する骨の病態の全て、または骨へのカルシウム固定の増加が望まれる骨の病態の全て、例えば種々の起源の骨粗鬆症(例えば、少年期の、更年期の、更年期後の、外傷後の、老齢による、または副腎皮質ステロイド療法もしくはその不全による)、骨折、骨格の脱塩に付隨する急性及び慢性の状態を含む骨障害、骨軟化症、歯槽骨の喪失及び皮膚病の予防または処置、ならびに上皮小体機能減退症の処置を適応とする。式Iの化合物は、とりわけ種々の起源の骨粗鬆症の予防または処置を適応とする。これらの適応に対し、指示される日用量は、式Iの化合物約0.01ないし約100mgの範囲であり、簡便には、例えば約2.5μgないし50mgの当該化合物を含有する単位投薬形態において一日に4回までの分割用量で、または持続放出剤型で投与する。式Iの化合物は、遊離型または薬学上許容し得る塩の形または錯体で投与できる。このような塩及び錯体は常法により製造することができ、且つ遊離化合物と同程度の活性を示す。さらに本発明は、遊離塩基型または薬学上許容し得る塩の形または錯体の形の式Iの化合物を、薬学上許容し得る希釈剤または担体と共に含有する薬用組成物を提供する。このような組成物は常法により配合できる。式Iの化合物は任意の常套経路により、例えば非経口的に、例えば注射用溶液または懸濁液の形で、また腸管経路で、例えば経口的に、例えば錠剤もしくはカプセル剤もしくは座剤の形で、または例えば上に開示されるような鼻腔用の剤型で、投与することができる。

【0033】上記に従って、本発明はさらに、

a) 医薬としての使用のための式Iの化合物またはその薬学上許容し得る塩または錯体：

b) 以下の処置を必要とする対象における、骨の形成の改善、例えば、骨からのカルシウムの溜漫または骨の再吸収の増大に付随する骨の病態の全て、または骨へのカルシウム固定の増加が望まれる骨の病態の全て、例えば種々の起原の骨粗鬆症（例えば、少年期の、更年期の、更年期後の、外傷後の、老齢による、または副腎皮質ステロイド療法もしくはその不全による）、骨折、骨格の脱塩に付随する急性及び慢性の状態を含む骨障害、骨軟化症、歯槽骨の喪失、及び皮膚病、の予防的または治療的処置のための方法であって、式Iの化合物またはその薬学上許容し得る塩または錯体の有効量を、当該対象に投与することからなる方法：

c) 上記b) の方法における使用のための薬用組成物の製造における使用のための式Iの化合物またはその薬学上許容し得る塩または錯体：を提供する。

【0034】式Iの化合物は、他の治療法、例えば骨粗鬆症の際のような骨再吸収阻害剤を用いる治療、特に例えばサケ、ウナギまたはヒトのカルシトニンのごときカルシトニンまたはその類似体もしくは誘導体、例えばエストロゲンのごときステロイドホルモン、フルオリド、カルシウムもしくはホスファートまたはこれらの任意の組合せを使用する治療法に対する補助物質または佐剤として使用することもできる。式Iの化合物が、例えば補助薬として、骨再吸収阻害剤に関連して投与される場合、同時投与される阻害剤の用量は、勿論使用する阻害剤

成分

量 (ml 当り)

A B

[1-38] hPTH	0. 8 mg	0. 04 mg
マンニトール	3. 6 mg	40. 0 mg
HSA	0. 45 mg	5. 0 mg
蒸留水		最終容量 1 ml とする

[1-38] hPTHおよびマンニトールを水に溶解し、クエン酸/Na₂HPO₄緩衝液の添加によりpHを5. 5に調節する。得られた溶液を低温での迅速な凍結、例えば約-40℃で約12時間の凍結に付す。次いで高度真空下で約24時間の凍結乾燥を行なう。この※

成分

量

[1-38] hPTH	8. 0 mg
グリシン	22. 0 mg
ショクロース	6. 0 mg
蒸留水	最終容量 0. 1 ml とする

得られる溶液はpH 6. 23である。この溶液を実施例1に開示のごとく凍結乾燥し、乾燥する。

成分

量

[1-38] hPTH	10. 0 または 40. 0 mg
KH ₂ PO ₄	1. 76 mg
Na ₂ HPO ₄	0. 07 mg

【0035】以下の実施例により本発明を例示する。以下の略語を使用する。

DMF=ジメチルホルムアミド

DCM=ジクロロメタン

Fmoc=9-フルオレニルメトキシカルボニル

HOBt=1-ヒドロキシベンゾトリアゾール

Pmc=2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチルクロマント-6-スルホニル

TFA=トリフルオロ酢酸

Trt=トリチル=トリフェニルメチル

HSA=ヒト血清アルブミン

【0036】

【実施例】実施例1

※後、15℃を超えない温度で減圧下にこの凍結乾燥物を乾燥する。組成物Bは、+5℃で保管した場合1年にわたる安定性を示す。

【0037】実施例2

量

8. 0 mg
22. 0 mg
6. 0 mg

【0038】実施例3

量

10. 0 または 40. 0 mg
1. 76 mg
0. 07 mg

19

20

ヒト血清アルブミン 5.0 mg
蒸留水 最終容量0.1mlとする

この溶液(pH=5.4)を実施例1に開示のごとく凍結乾燥及び乾燥する。
この溶液を実施例1に開示のごとく凍結乾燥する。この溶液をpH5.4に緩衝するためクエン酸及び※

成分	量
[1-38] hPTH	0.04 mg
クエン酸	1.92 mg
Na ₂ HPO ₄	3.31 mg
ヒト血清アルブミン	5.0 mg
蒸留水	最終容量0.1mlとする

この溶液を実施例1に開示のごとく凍結乾燥する。この溶液をpH5.4に緩衝するためクエン酸及び※

組成物 (mg/カプセル)	実施例5	実施例6	実施例7	実施例8
a. [1-38] hPTH	0.8	0.8	0.8	0.8
b. クエン酸	--	--	0.19	0.19
c. Na ₂ HPO ₄	--	--	0.33	0.33
d. HSA	--	--	0.5	0.5
e. マンニトール	19.2	--	4.0	4.0
f. 微結晶性セルロース	--	19.2	14.27	--

微結晶性セルロース(アビセルPH101、登録商標)はおよそ38-68μの粒子系分布を有する。実施例5ないし7の組成物は粉末の形で得られ、これらを篩過し、次いでカプセルに充填する。実施例7においては、成分a.ないしe.を水1mlに溶解し、得られた溶液を篩過し、次いで凍結乾燥する。成分f.をこの凍結乾燥混合物に混合し、かくして鼻腔投与に直ちに使用できる粉末が得られる。実施例8においては、全成分を水1mlに溶解し、得られた溶液を篩過し凍結乾燥する。次いで、投与に先立ち、この粉末を、点鼻剤またはスプレーに再構成するために適当な器具の中で水9.0μlに溶解する。実施例5ないし7の組成物は吸入器により、実施例8の組成物は点鼻器具またはポンプ式噴霧器によって鼻腔投与できる。各発動作用により、各々20mgの粉末または0.1mlの水中、[1-38] hPTH 0.8mgが投与される。実施例7及び8において、溶液は前述のクエン酸/Na₂HPO₄緩衝液の添加により緩衝される。

【0041】実施例9

微結晶性セルロース17.4mgを下記のようにグリセリルモノオレアート1.8mgで被覆し、[1-38]★

	C _{pmax} (ng/ml)	t _{max} hr
Ref	21.24	0.17
実施例1A	2.79	0.37
実施例6	3.36	0.63
実施例9	3.03	0.57

血清レベルの濃度及び累積尿中排泄に基づく生物学的利用可能性のレベルは、サルにおいて[1-38] hPTT 50

★hPTH 0.8mgに混合し、次いで篩過する。被覆セルロースは以下のようにして製造する: グリセリルモノオレアート1.8mgをエタノール1mlに溶解する。次に微結晶性セルロース17.4mgをこれに分散させ、エタノールを蒸発させる。流動性の被覆微結晶性セルロース粉末が得られる。

【0042】実施例のための生物学的利用可能性の考察
実施例1A、6及び9の組成物を[1-38] hPTH 100μg/kgの用量でアカゲザル(n=5)に鼻腔投与する。[1-38] hPTH 0.4mg、マンニトール40.0mg、HSA 5.0mgを含有し、Na₂HPO₄/クエン酸でpH5.5に緩衝した対照組成物を10μg/kgの用量で静脈内投与する。投与後10、20、30、45、60、90、240及び360分において血液を採取し、分析するまで-80℃の急速冷凍下に保存する。検出限界0.2-0.1ng/mlのラジオイムノアッセイ技術を用いて、血清中の[1-38] hPTH濃度を分析する。さらに、尿を集め、RIA技術によりcAMPの分析を行なうまで-80℃の急速冷凍下に保存する。以下の薬動力学的パラメータが得られる:

AUC(0-6時間)	生物学的 利用可能性
ng ml ⁻¹ hr	%
7.43	100
1.76	2.20
3.76	6.17
2.60	4.97

Hの治療的血清レベルが達成されていることを示す。

【0043】実施例10 鼻腔用凍結乾燥物の挿入剤

[1-38] hPTH
乳糖 0.8 mg
HPMC 2.0 mg
3.0 mg
水30gを70℃に加熱する。HPMC 1.5 gを加える。この懸濁液を室温に冷却し、乳糖1gを加える。純水15gを用いてhPTHフラグメントを溶解する。液体を混合し、水を加えて50mlとする。この溶液を0.2μのメッシュで滤過し、アルミニウム板の窪み(5mm)の中に0.1mlずつピペットを入れる。この板を-35℃に4時間冷却し、次いで凍結乾燥を-10℃で40時間開始し、+15℃で24時間続ける。凍結乾燥機の温度を室温まで上げた後、得られた凍結乾燥塊を注意深く板からはずし、針の先端が端から約3mmで切り取られた1mlの注射筒に挿入する。それぞれの塊の重量は約5mgである。得られた挿入剤は安定で容*

または[1-38] hPTH
グリシルリジンアンモニウム
クエン酸
Na₂HPO₄

薫留水を加えて0.1mlとする

よりなる組成物を製造する。実施例8に記載のように、この混合物は凍結乾燥し、投与の直前に水に溶解する。

【0047】実施例14 hPTH [1-36] NH₂

このペプチドをポリスチレンを基礎とする樹脂支持体上で段階的に組み立てて、Fmoc基をα-アミノ基の保護に使用する。側鎖官能基は、Glu(OtBu)、Asp(OtBu)、Ser(tBu)、Lys(BoC)、Arg(Pmc)及びHis(Trt)として保護する。他のアミノ酸は非保護のままでする。例えばテトラヘドロン・レターズ(Tetrah. Letters)第28巻3787-3790頁(1987)に記載のように製造できる4-(2',4'-ジメトキシフェニル)-Fmoc-アミノ-メチル-フェノキシコ(ポリスチレン-ジビニルベンゼン)0.4mmol/gを、以下の工程(1)ないし(5)の処理サイクルに付す。

- (1) DMF
- (2) DMF中のビペリジン(20%)
- (3) DMF
- (4) HOBT、ジイソプロピルカルボジイミド、及びFmoc-アラニン(各々出発樹脂1g当り0.8mmol)

(5) DMF洗液及び試薬の容量は、出発樹脂のg当り5mlないし20mlである。次の(1)ないし(5)の処理サイクルにおいてはFmoc-アラニンの代わりにFmoc-バリンで置き換え、同様にして正しいアミノ酸配列の表記化合物が樹脂上に組み立てられるよう、各サイクルについて実施する。各工程は、樹脂の完全な反応(工程2、4)または前の試薬が樹脂から完全に置換される(工程3、5)のに必要な回数だけ反復する。それ

*易に水に溶解する。これは直径約5mm、長さ約6ないし7mmの同型の凍結乾燥物である。

【0044】実施例11

[1-38] hPTHの代わりに[1-37] hPTHを使用する外は実施例1、6、7、8または9の操作を反復する。

【0045】実施例12

[1-38] hPTHの代わりに[1-34] hPTHを使用する外は実施例6、7、8または9の操作を反復する。

【0046】実施例13

実施例8の操作に従って、

[1-34] hPTH
または[1-37] hPTH

0.8 mg
0.2 mg
0.19 mg
0.33 mg

20 それのサイクルの後に樹脂の試料を取り、ニンヒドリンを用いる残留アミノ基の比色試験により、結合反応が完結したか否かを調べる。合成の最後に、工程(1)ないし(3)のみからなる最終サイクルを実施し、ペプチド樹脂を2-ブロバノール、次いでメタノール及び塩化メチレンの混合物(1:1v/v)で洗浄し、減圧デシケーター中で完全に乾燥する。このペプチド樹脂(1g)を、トリフルオロメタン-スルホン酸、TFA、p-クレゾール、硫化ジメチル、及び1,2-エタンジオール(10:50:8:30:2v/v)の混合物中に室温で15分間懸濁し、樹脂粒子を滤去し、2%の1,2-エタンジオールを含有する幾らかのTFAで洗浄する。エーテル(20容量)の添加により、合した濾液から生成物を沈澱させ、滤過し、さらなるエーテルで洗浄し、乾燥する。この生成物を、2%H₃PO₄中のアセトニトリルの勾配を用いるC-18シリカカラム上のクロマトグラフィーに付す。分画を分析用HPLCにより調べて純粋な当該化合物を含有するものを集め、アセタート型の陰イオン交換樹脂で滤過し、凍結乾燥すると、表記化合物がポリアセタート、ポリヒドラートとして得られる。

【0048】実施例15 hPTH (1-36)

このペプチドは、ポリスチレンを基礎とする樹脂支持体上で段階的に組み立てられる。保護基は実施例14通りである。例えばジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリー(J. Org. Chem.)第46巻3433-3436頁(1981)に記載のごとく製造される4-ヒドロキシメチル-フェノキシメチル-コ(ポリスチレン-ジビニルベンゼン)0.6mmol/gを、DMF(2ml/g樹脂)及びDCM(8ml/g樹脂)中のFmoc-アラニン(1.8mmol/g樹脂)、1-

ヒドロキシベンゾトリアゾール (0.6 mmol/g樹脂)、N,N'-ジシクロヘキシリカルボジイミド (1.8 mmol/l/g樹脂) 及び4-ジメチルアミノビリジン (0.6 mmol/l/g樹脂) の混合物と16時間反応させる。樹脂を滤去し、DMFおよびDCMの混合物 (1:4 v/v)、次いでDMFにより洗浄する。これを、第一のサイクルの工程 (4) がFmoc-バリンで始まり、これに続く各サイクルのFmoc-アミノ酸が、正しいアミノ酸配列の表記化合物が組み立てられるように置換された。実施例1に記載の(1)ないし(5)と同じ処理サイクルに付す。このペプチドを実施例14に記載のように樹脂から開裂させ、精製して、表

記化合物をポリアセタート、ポリヒドラートとして得る。

【0049】実施例16 [Leu¹⁴-]h-PTH (1-36) アミド

Fmoc-ロイシンから出発し実施例14に記載の方法に従って表記化合物を製造する。[α]_D²⁰= -17.1° (95%AcOH中c=0.51)

【0050】実施例17

【1-38】hPTHの代わりに [1-36] hPTH を使用して、実施例1ないし10及び13のいずれか一つの方法を反復する。

フロントページの続き

(72)発明者 クリストイーネ・エクスライン
スイス、ツエーハー-4303カイザーアウグ
スト、ヴィトハーグヴェーク30番

(72)発明者 アンドレアス・ルンメルト
スイス、ツエーハー-4104オーベルヴィ
ル、シュタレンライン7番

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.